

多壁碳纳米管 QuEChERS 结合超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中兽药多残留

莫 迎, 盘正华*, 蒋 湘, 梁飞燕, 黄燕红, 刘华文

(广西-东盟食品药品安全检验检测中心, 南宁 530021)

摘 要: **目的** 基于改良的多壁碳纳米管 QuEChERS 方法, 建立超高效液相色谱-串联质谱法快速筛查和测定鸡蛋中 38 种兽药残留量。**方法** 样品以 70%乙腈提取, 结合多壁碳纳米管、十八烷基键合硅胶、乙二胺-N-丙基硅烷混合吸附剂净化提取液, 以 1%甲酸水和 1%甲酸甲醇为流动相, 经 CAPCELL PAK C₁₈ MGIII (2.0 mm×100 mm, 1.1 μm)分离, 采用电喷雾正负离子多反应监测模式检测, 基质匹配外标法进行定量。**结果** 38 种化合物在 0.1~100.0 μg/L 范围内线性关系良好($r > 0.99$); 在 3 个添加水平下, 平均回收率为 80.1%~113.8%, 相对标准偏差为 1.1%~9.8%, 定量限为 0.014~1.100 μg/kg。**结论** 该方法简便, 基质干扰小, 可用于鸡蛋中磺胺类、氯霉素类、氟虫腈类以及硝基咪唑类药物快速筛查和定量分析。

关键词: 多壁碳纳米管; QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱法; 兽药残留; 鸡蛋

Determination of veterinary drug residues in eggs by multiwalled carbon nanotube QuEChERS combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

MO Ying, PAN Zheng-Hua*, JIANG Xiang, LIANG Fei-Yan,
HAUNG Yan-Hong, LIU Hua-Wen

(Guangxi-Asean Center Food and Drug Safety Control, Nanning 530021, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for rapidly screening and determination of 38 veterinary drugs residues in eggs by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, based on the modified multi-walled carbon nanotubes QuEChERS method. **Methods** The sample was extracted with 70% acetonitrile and the extract was purified by multi-walled carbon nanotubes, octadecyl bonded silica gel, ethylenediamine-N-propylsilane mixed adsorbent. The samples were separated by CAPCELL PAK C₁₈ MGIII (2.0 mm×100 mm, 1.1 μm) using 1% formic acid water and 1% formic acid methanol as mobile phase, then detected by electrospray positive and negative ion multiple reaction monitoring mode, and quantified by matrix-matched external standard method. **Results** The 38 compounds had good linear relationships in the range of 0.1–100.0 μg/L ($r > 0.99$). The average recoveries of 3 different spiked levels were 80.1%–113.8%, with the relative standard deviations of 1.1%–9.8%. The limits of quantitation were 0.014–1.100 μg/kg. **Conclusion** This method is simple

基金项目: 广西食品药品监督管理局研究项目(2018-09)、食品安全地方标准制定(修订)项目(桂地标食 2017006 号)

Fund: Supported by Guangxi Food and Drug Administration Research Projects (2018-09) and Local Food Safety Standard Establishment (Revision) Project (GUANG XI Local Food Standard 2017006)

***通讯作者:** 盘正华, 主管药师, 主要研究方向为食品检测。E-mail: 493238773@qq.com

***Corresponding author:** PAN Zheng-Hua, Pharmacist, Guangxi-Asean Center Food and Drug Safety Control, No.9 Qinghu Road, Nanning, 530021, China. E-mail: 493238773@qq.com

and has low matrix interference, which can be used for rapid screening and quantitative analysis of sulfonamides, chloramphenicol, fluorozanitrile and nitroimidazoles in eggs.

KEY WORDS: multiwalled carbon nanotube; QuEChERS; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; veterinary drugs residues; eggs

1 引言

我国是世界最大的鸡蛋生产国,鸡蛋作为优质的动物源蛋白质,在居民膳食结构中的比重日趋增加。在禽类养殖过程中,兽药的合理使用可有效控制疫病,但由于一些养殖户违规超范围超剂量使用兽药,导致动物体内残留的兽药通过食物链在人体内蓄积,对人类健康造成一定的潜在危害。磺胺类药物(sulfonamides)是一类具有对氨基苯磺酰胺结构人工合成的抗菌药^[1],该类药物在体内的作用和代谢时间较长,易在畜禽体内过量残留,从而对处于食物链顶端的人类产生毒性作用,如引起造血系统功能紊乱、过敏、致癌等^[2]。氯霉素(chloramphenicol)属于酰胺醇类药物,曾被广泛地用于动物各种传染性疾病的预防和治疗,氯霉素对人类最严重的副作用是特异性的骨髓毒性,导致再生障碍性贫血和白血病^[3]。氟虫腈(fluorine nitrile)是一种苯并咪唑类杀虫剂,其代谢物的毒性远大于母体^[4],易引起基因突变或致癌。硝基咪唑(nitroimidazoles)是一类具有 5-硝基取代咪唑杂环结构的抗菌抗原虫药物,原药和代谢物具有潜在的致癌、致畸和致突变性^[5]。目前我国制定了禽蛋中部分禁限用兽药残留限量标准,农业部公告第 235 号^[6]规定动物源食品不得检出氯霉素类、硝基咪唑类兽药,而对禽蛋中磺胺类兽药尚未制定残留限量值,食品安全国家标准 GB 2763.1-2018^[7]规定了蛋类(鲜蛋)中氟虫腈及其代谢产物最大残留限量为 0.02 mg/kg。

由于动物源食品基质复杂,兽药残留量多处于痕量水平,因此对样品前处理技术提出更严苛的要求。国标、行标兽药残留前处理技术主要有液液提取、固相萃取、凝胶色谱法,存在有机试剂用量大、操作繁琐耗时、基质干扰大等问题。QuEChERS方法是美国农业部Anastassiades^[8]等于2003年开发的一种基于固相萃取和基质固相分散技术的预处理方法,早期用于蔬菜或水果中的多农残检测。发展至今,其应用范围已扩大到兽药残留^[9]、非法添加^[10]等领域,成为多残留分析的主流技术。近年来随着新型萃取材料的开发应用,QuEChERS方法得到不断改良,尤其以十八烷基键合硅胶(ostade-cylsilane, C₁₈)、乙二胺-N-丙基硅烷(primary secondary amine, PSA)、石墨化炭黑(graphitized carbon black, GCB)、多壁碳纳米管(multi-walled carbon nanotube, MWCNTs)应用较广。多壁碳纳米管是一种新型纳米材料,于1991年由日本科学家Iijima首次发现^[11],因具有中空结构和大比表面积而具有卓越的吸附能力^[12],其独特的性能在农药、兽药残留分析领域引起高度关注^[13-15]。

兽药残留分析方法主要有气相色谱法^[16]、高效液相色谱法^[17]、气相色谱-质谱联用法^[18]、高效液相色谱-质谱联用法^[19]。高效液相色谱-质谱联用技术因其快速准确、高灵敏度以及能够同时检测多种目标化合物而逐渐成为多残留分析的首选方法。我国现行有效的国标、行标采用分类检测各种类型的兽药,缺失高通量检测标准,分析效率低且成本高。本研究以70%乙腈沉淀蛋白,采用MWCNTs、C₁₈、PSA 3种吸附剂去除样品中的脂肪、蛋白质、类胡萝卜素等杂质,结合超高效液相色谱质谱联用技术建立磺胺、氯霉素、氟虫腈、硝基咪唑4类共38种禁限用兽药残留量的高通量测定方法,为相关监管单位的日常抽检工作提供参考。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

AB SCIEX TRIPLE QUAD 4500 高效液相色谱-三重四级杆串联质谱仪(美国 AB SCIEX 公司); XSE205DU 分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司); Milli-Q 超纯水器(法国 Millipore 公司); Multifuge 冷冻离心机(美国 Thermo 公司); Vortex 3 涡旋振荡器(德国 IKA 公司); Multi Reax 全自动振荡仪(德国 Heidolph 公司); Multivap 氮吹仪(美国 Organomation 公司)。

甲醇、乙腈、甲酸(色谱纯,德国默克公司); 无水硫酸镁、乙酸、甲酸铵(分析纯,德国默克公司); PSA、C₁₈ 粉末(天津博纳艾杰尔科技有限公司); LUMTECH Extraction Salts 盐析/萃取盐包(含 6 g 无水硫酸钠、2 g 氯化钠,北京绿绵科技有限公司); 多壁碳纳米管(MWCNTs、长度 10~30 μm, 外径 10~20 nm, 内径 5~10 nm, 纯度>95%, 比表面积>200 m²/g, 南京先丰纳米材料科技有限公司); 38 种标准物质(浓度均大于 99%, 德国 Dr.Ehrenstorfer 公司), 名称见表 1。

80 批鸡蛋样品采集于广西南宁、桂林、全州、柳州、来宾、钦州、防城港、玉林、贵港、贺州等地农贸市场、超市。

2.2 实验方法

2.2.1 样品前处理

称取 2 g(精确至 0.01 g)经混匀的样品,置于 50 mL 聚丙烯离心管中,加入 4 mL 水、10 mL 乙腈(相当于 70%乙腈)旋涡振荡 5 min,于 4 °C 下离心(10000 r/min)5 min,取全部上清液置于装有 QuEChERS 盐包的 15 mL 离心管中,涡旋 1 min,于 4 °C 下离心(10000 r/min)5 min,精密量取 4 mL 上清液于 15 mL 离心管中(内含 600 g 无水硫酸镁、

20 mg MWCNTs、100 mg PSA、200 mg C₁₈), 涡旋混匀 1 min, 精密量取 2 mL 上清液于 40 °C 水浴中氮气吹至近干, 加 10% 乙腈定容至 1 mL, 用微孔滤膜(0.22 μm)过滤, 取续滤液, 测定。

2.2.2 溶液配制

准确称取 35 种标准物质各 10 mg(精确至 0.1 mg), 分别置于 10 mL 量瓶中, 用乙腈溶解并定容至刻度, 配制成 1 mg/mL 的标准储备溶液。分别精密量取各标准储备溶液 1 mL, 置于同一 100 mL 量瓶中, 用乙腈稀释并定容至刻度, 得到 10 μg/mL 混合标准中间溶液。精密量取混合标准中间溶液各 1 mL, 分别置于 10、100 mL 量瓶中, 用乙腈稀释并定容至刻度, 分别得到 1 μg/mL、100 μg/L 混合标准溶液。

取鸡蛋空白样品 7 份, 每份 2.00 g, 与 2.2.1 同法操作, 得到空白基质溶液。用空白基质溶液把混合标准溶液稀释成 0.1、1.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 μg/L 的基质混合标准工作溶液。

2.2.3 液相色谱-串联质谱条件

(1) 液相色谱条件

CAPCELL PAK MGIII C₁₈ 柱(2.0 mm×100 mm, 1.1 μm); 柱温: 30 °C; 进样体积: 5 μL; 流速: 0.5 mL/min; 流动相: A 为含 0.1% 甲酸溶液, B 为甲醇(含 0.1% 甲酸)。梯度洗脱程序: 0~15 min, 2%~50%B; 15~21 min, 50%~90%B; 21~23 min, 90%B, 23~24 min, 90%~2%B, 24~25 min, 2%B。

(2) 质谱条件

电喷雾离子源: 正负离子模式扫描, 多反应监测模式, 气帘气压力 35 psi, 离子源温度 550 °C, 正离子: 喷雾电压 4500 V, 入口电压 10 V, 碰撞室出口电压 12 V, 负离子: 喷雾电压-4500 V, 入口电压-10 V, 碰撞室出口电压-8 V, 其他参数见表 1。

3 结果与分析

3.1 色谱条件优化

3.1.1 色谱柱的选择

由于目标化合物均为极性较强的物质, 本研究考察 3 款 C₁₈ 色谱柱, 柱 1 为 ZORBAX SB-Aq C₁₈(2.1 mm×100 mm, 1.8 μm); 柱 2 为 BEH C₁₈(2.0 mm×100 mm, 1.7 μm); 柱 3 为 CAPCELL PAK C₁₈ MGIII(2.0 mm×100 mm, 1.1 μm)。结果显示使用柱 1 氯霉素类响应低, 磺胺对甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲氧嗪 3 个同分异构体无法分离; 柱 2 磺胺类大部分物质和甲砒霉素峰形宽, 响应低; 柱 3 是一款适合在酸性条件下分析碱性化合物的色谱柱, 对 38 种化合物分离效果较好, 峰形对称, 正负离子响应值较高。综合考虑, 选择柱 3 作为分离柱。

3.1.2 流动相的选择

首先对乙腈-水和甲醇-水流动相体系进行考察, 在乙腈-水中, 磺胺类大部分化合物峰拖尾, 磺胺对甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲氧嗪只出现 2 个峰, 而在甲醇-水体系中, 磺胺对甲氧嘧啶、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺甲氧嗪 3 个同分异构体达到基线分离, 应该是乙腈的洗脱能力较强, 导致同分异构体同时出峰。在纯水系统中, 氯霉素、氟苯尼考、甲砒霉素响应较低, 为了提高负离子的电离效率, 在水相中加入 5 mmol/L 甲酸铵, 氯霉素、氟苯尼考、甲砒霉素和硝基咪唑类化合物峰形得到较大的改善, 响应值提高, 但是大部分磺胺类物质响应降低。由于磺胺类属于弱碱性物质, 故在水相和有机相中分别加入 0.1% 甲酸, 提供质子可以促进电离, 磺胺类化合物离子化率提高, 响应值明显增大。综上, 优选 0.1% 甲酸甲醇-0.1% 甲酸作为流动相。

表 1 38 种药物质谱参数
Table 1 Parameters of 38 kinds of veterinary drugs residues

名称	保留时间/min	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	碰撞能/eV	采集模式
氯霉素类					
氯霉素(chloramphenicol)	11.55	321.1	152.1*, 257.0	23, 16	—
氟苯尼考(flornfenicol)	9.26	355.8	184.9*, 336.0	24, 17	—
甲砒霉素(thiamphenicol)	7.05	353.8	184.9*, 289.8	28, 18	—
氟虫腈类					
氟虫腈(fipronil)	20.51	434.9	329.8*, 249.8	21, 34	—
氟甲腈(fipronil-desulfinyl)	20.33	386.9	350.8*, 281.8	22, 46	—
氟虫腈磺(fipronil-sulfone)	20.88	450.9	281.8*, 243.8	40, 65	—
氟虫腈亚砷(fipronil-sulfide)	20.66	418.9	382.8*, 261.8	17, 36	—
磺胺类					
磺胺苯酰(sulfabenzamide)	10.77	276.9	156.0*, 108.0	17, 30	+

续表 1

名称	保留时间/min	母离子 (<i>m/z</i>)	子离子 (<i>m/z</i>)	碰撞能/eV	采集模式
磺胺类					
磺胺醋酐(sulfacetamide)	3.90	215.1	156.1 [*] , 108.2	20, 27	+
磺胺二甲基嘧啶(sulfachloropyridazine)	8.89	285.3	156.1 [*] , 108.1	22, 36	+
磺胺嘧啶(sulfadiazine)	5.13	251.2	108.2 [*] , 92.0	21, 30	+
磺胺二甲氧嘧啶(sulfadimethoxine)	10.05	311.0	156.0 [*] , 108.0	24, 34	+
磺胺邻二甲氧嘧啶(sulfadoxine)	12.63	311.2	156.2 [*] , 108.2	24, 32	+
磺胺甲基嘧啶(sulfamerazine)	6.64	265.1	156.1 [*] , 108.2	23, 32	+
磺胺甲氧嘧啶(sulfameter)	8.43	281.2	156.0 [*] , 108.1	22, 38	+
磺胺二甲嘧啶(sulfamethazine)	5.07	279.1	124.2 [*] , 186.0	27, 23	+
磺胺甲二唑(sulfamethizole)	7.91	271.2	156.0 [*] , 108.0	21, 35	+
磺胺甲基异恶唑(sulfamethoxazole)	9.16	254.2	156.2 [*] , 108.1	21, 30	+
磺胺甲氧嘧啶(sulfamethoxypyridazine)	7.83	281.0	156.0 [*] , 108.0	22, 35	+
磺胺间甲氧嘧啶(sulfamonomethoxine)	9.44	281.2	156.0 [*] , 108.2	23, 32	+
磺胺恶唑(sulfamoxol)	7.8	268.1	156.1 [*] , 113.1	21, 24	+
磺胺苯吡唑(sulfaphenazole)	11.73	315.1	156.0 [*] , 222.1	29, 24	+
磺胺吡唑(sulfapyrazole)	13.09	329.1	172.1 [*] , 156.1	42, 33	+
磺胺吡啶(sulfapyridine)	6.05	250.2	156.1 [*] , 184.0	23, 22	+
磺胺喹沙啉(sulfaquinoxaline)	13.31	301.2	156.2 [*] , 92.1	21, 39	+
磺胺噻唑(sulfathiazole)	5.78	256.1	156.0 [*] , 108.1	21, 31	+
磺胺二甲异嘧啶(sulfisomidine)	8.07	279.2	124.2 [*] , 186.0	28, 23	+
磺胺异恶唑(sulfisoxazole)	9.99	268.1	113.1 [*] , 156.0	25, 22	+
甲氧苄啶(trimethoprim)	6.69	291.2	230.1 [*] , 261.0	30.34	+
硝基咪唑类					
羟基甲硝唑(1H-imidazole-1-ethanol)	3.14	187.7	123.3 [*] , 126.2	19, 23	+
羟甲基甲硝咪唑 (1-methyl-5-nitro-1H-imidazole-2-methanol)	3.81	157.8	140.2 [*] , 55.1	16, 25	+
2-甲硝咪唑(2-methyl-5-nitroimidazole)	3.24	128.1	42.2 [*] , 82.0	23, 24	+
苯硝咪唑(benzimidazole)	6.31	164.1	118.1 [*] , 91.1	27, 49	+
地美硝唑(dimetridazole)	4.87	142.2	96.1 [*] , 81.1	23, 34	+
异丙硝唑(ipronidazole)	10.25	170.2	124.2 [*] , 109.1	24, 34	+
甲硝唑(metronidazole)	4.25	172.0	127.8 [*] , 81.7	19, 31	+
奥硝唑(ornidazole)	8.32	220.0	128.1 [*] , 82.1	16, 31	+
洛硝哒唑(ronidazole)	4.68	201.1	139.7 [*] , 54.8	15, 28	+

注: *定量离子。

3.2 质谱条件的优化

将 1 $\mu\text{g/mL}$ 的空白基质混合标准溶液在正离子和负离子模式下进行一级质谱全扫描,获取母离子进行二级质谱扫描,进一步对碰撞能量、去簇电压等参数进行优化,选择无干扰、响应高的 2~3 个为子离子,其中响应最高的作为定量离子,根据欧盟 2002/657/EC 法案,低分辨质谱确证识别点数至少为 4,因此本实验每种化合物选择 1 个母离子和 2 个子离子,识别点即满足检测要求。各化合物的总离子流色谱图见图 1。

3.3 QuEChERS 方法的优化

3.3.1 提取方法的选择

由于鸡蛋富含蛋白质、磷脂,基体复杂,基质效应对测定结果影响较大,因此本实验对蛋白沉淀剂进行优化,常用沉淀剂有甲醇-水-酸^[7]、乙腈-水-酸^[20],乙腈^[21,22],首选对蛋白质有较强沉淀作用的乙腈,以沉淀物重量和回收率作为考核指标,取样品 2.00 g,加标浓度为 10.0 $\mu\text{g/kg}$,分别加入 10 mL 乙腈、70%乙腈和含 1%乙酸乙腈,涡旋振荡,离心后称取沉淀物重量,结果显示 70%乙腈提取液澄清,无油脂漂浮,沉淀物重量依次为 70%乙腈>乙腈>1%乙酸乙腈,回收率依次为 70%乙腈>1%乙酸乙腈>乙腈。故选择 70%乙腈作为提取溶剂。

3.3.2 吸附剂的选择

不同吸附剂所吸附的杂质性质各异,PSA 去除有机酸、糖类、脂肪酸, C_{18} 吸附弱极性物质如脂肪、多环芳烃^[20],MWCNTs 去除色素能力强^[23]。鸡蛋中的色素为脂溶性类胡萝卜素,对极性目标物的测定干扰较大,本实验主要考察 PSA、 C_{18} 、MWCNTs 3 种常用吸附剂的净化效果,以色素吸附效果为考察指标,取 4 mL 提取液分别加入 30 mg MWCNTs、100 mg PSA、200 mg C_{18} ,色素吸附效果 MWCNTs> C_{18} >PSA。同时考察了 MWCNTs 的用量对提取液颜色影响,从 5 mg 增至 100 mg,提取液颜色从黄色逐渐变为无色,说明 MWCNTs 对色素有较强的吸附作用。MWCNTs 具有较大的空隙与比表面积,并且由于其表面存在羧基、羟基等官能团,去除干扰物同时也吸附目标化合物,目前报道最多的是 MWCNTs 对磺胺、氯霉素类药物的强吸附作用^[24,25],因此本实验研究了 MWCNTs 的用量对不同类型药物的吸附影响,以回收率为考核指标,用量分别为 10、20、30、50、100 mg,图 2 表明 MWCNTs 用量大小对氟虫腈类药物回收率影响不大,而磺胺、氯霉素、硝基咪唑类药物回收率随着 MWCNTs 用量增大逐渐减小,显示 MWCNTs 对含磺酰胺基、硝基的药物有吸附作用,与报道一致^[26]。为了使用最少量的 MWCNT 获取最佳结果,选择 MWCNTs 添加量为 20 mg。基于 C_{18} 和 PSA 的吸附性能,联合使用可以有效去除动物源样品中脂肪、小极性化合物,本实验还分别考察 20 mg

MWCNTs+100 mg PSA、20 mg MWCNTs+200 mg C_{18} 、20 mg MWCNTs+100 mg PSA+200 mg C_{18} 不同吸附剂组合的回收率,结果表明 20 mg MWCNTs+100 mg PSA+200 mg C_{18} 净化效果较佳,基质干扰较小,回收率在 84.3%~100.6%,满足检测要求。

3.4 基质效应

基质效应(matrix effect, ME)普遍存在残留分析的物质中,影响检测结果的准确性^[27],本实验采用空白基质标准曲线与乙腈为溶剂标准曲线的比值评价 ME,计算方法为 $\text{ME}=\text{空白基质目标物响应值}/\text{纯溶剂目标物响应值}$,当 ME 介于 0.9~1.1 时,基质干扰程度较低;当 $\text{ME}<0.9$ 或 $\text{ME}>1.1$ 时,为基质抑制或增强。表 2 结果表明氟甲腈、氟虫腈、氟虫腈亚砷、磺胺苯酰表现为基质抑制,其他化合物基质效应可以忽略,为了消除基质干扰,确保检验结果的准确性,本实验采用基质匹配校准曲线定量。

3.5 线性范围和定量限

以基质混合标准工作溶液进样测定,用外标法定量,以质量浓度为横坐标(X , $\mu\text{g/L}$),定量离子的响应值为纵坐标(Y)绘制标准曲线,分别以 3 倍和 10 倍信噪比计算方法检出限和定量限标准溶液的线性范围、相关系数、检出限、定量限见表 2。

3.6 回收率与精密度

取 2.00 g 样品,置于 50 mL 聚丙烯具塞离心管中,分别添加 0.01、0.02、0.2 mL 的混合标准溶液(100 $\mu\text{g/L}$),加入 70%乙腈溶液至 10 mL,其余按 2.2.1 方法操作,进行低、中、高 3 个浓度水平的加标回收试验,每个添加水平测定 6 次,结果见表 3。

3.7 实际样品的测定

采用本方法对 80 批样品中 38 种兽药残留进行测定,结果 10 批鸡蛋检出磺胺甲基异恶唑、磺胺间甲氧嘧啶、磺胺嘧啶、甲氧苄啶,含量在 116.9~958.5 $\mu\text{g/kg}$;4 批检出地美硝唑、羟基甲硝唑、羟甲基甲硝唑,含量在 320.1~414.3 $\mu\text{g/kg}$ 。为了验证本研究所建立的方法的准确性,同时采用 GB/T 21316-2007《动物源性食品中磺胺类药物残留量的测定 高效液相色谱-质谱/质谱法》^[28]、SN/T 1928-2007《进出口动物源性食品中硝基咪唑残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法》^[29]对上述几种药物进行测定,本法与其他方法测定结果相对偏差为 3.9%~8.7%,说明方法准确可靠。且上述 2 种标准中分析方法只测定单类兽药,而本研究提供一种在 25 min 内快速测定 4 类 38 种兽药的方法,大大缩短提取时间,并且采用 3 种吸附剂净化样品,基质效应小,弥补了国标、行标分类检测的不足。

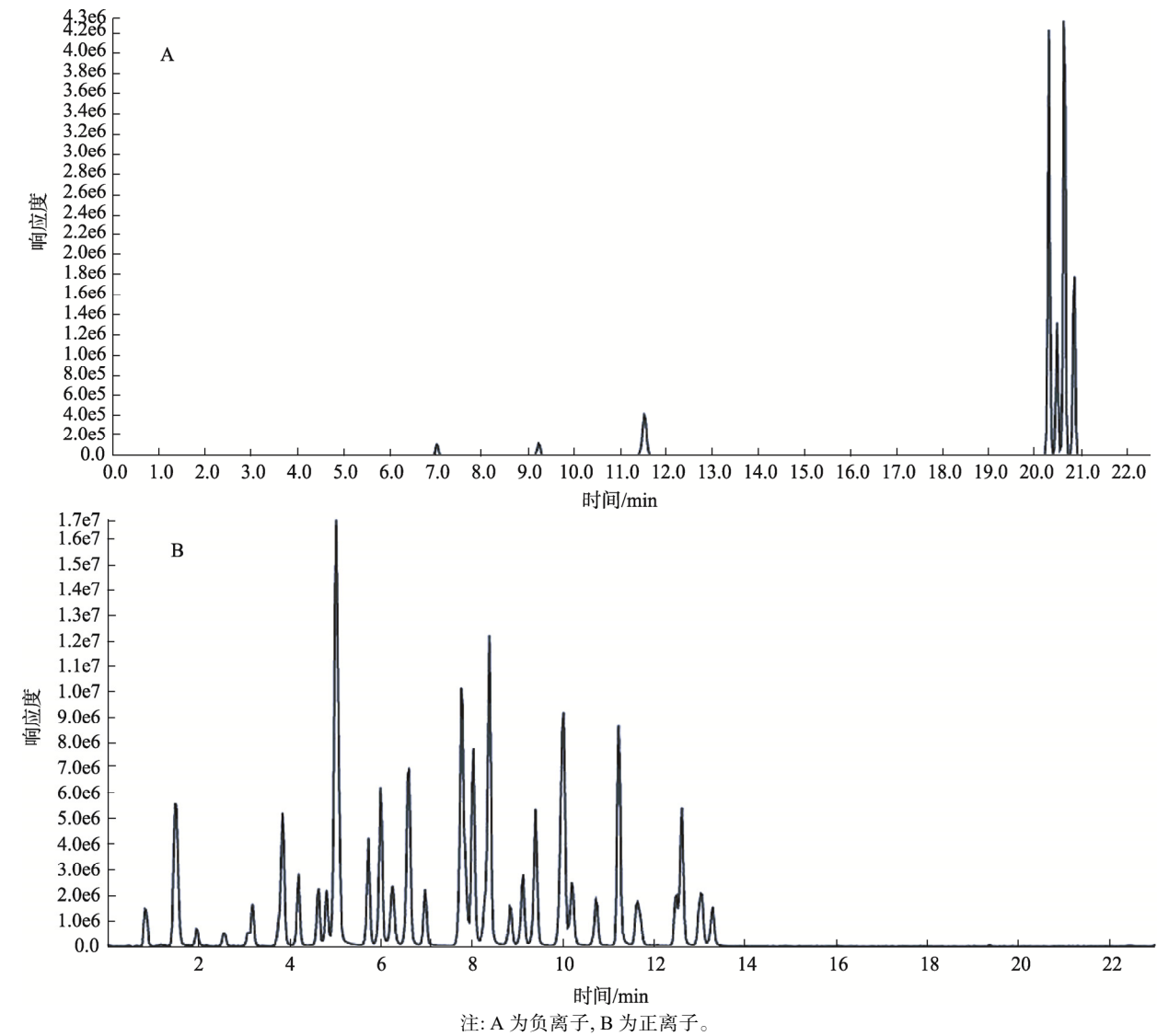


图 1 38 种兽药基质混合标准溶液的总离子流图

Fig.1 Total ion current chromatograms of matrix standard solution of 38 veterinary drugs residues

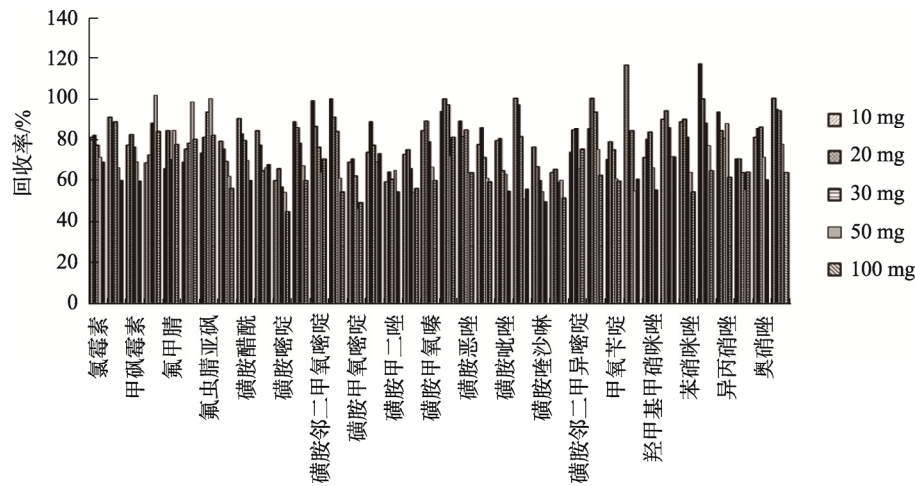


图 2 MWCNTs 对 38 种兽药提取效果的影响

Fig.2 Recovery rates of 38 veterinary drugs residues with MWCNTs

表 2 38 种兽药基质效应、线性范围、相关系数、检出限、定量限

Table 2 Matrix effects, linear ranges, correlation coefficients, limits of detection and limits of quantitative of 38 veterinary drugs

化合物	线性范围/(μg/L)	基质线性方程	相关系数(<i>r</i>)	基质效应	检出限/(μg/kg)	定量限/(μg/kg)
氯霉素	0.1~100	$Y=2.53 \times 10^5 X + 2.31 \times 10^4$	0.999	1.07	0.0042	0.014
氟苯尼考	0.1~100	$Y=6.35 \times 10^4 X + 2.04 \times 10^3$	0.999	1.04	0.0051	0.017
甲矾霉素	0.1~100	$Y=2.04 \times 10^4 X + 2.29 \times 10^2$	0.998	1.03	0.0064	0.021
氟虫腴	0.1~100	$Y=2.35 \times 10^3 X + 2.86 \times 10^2$	0.995	1.09	0.0052	0.017
氟甲腴	0.1~100	$Y=2.19 \times 10^4 X + 6.92 \times 10^3$	0.998	0.74	0.0078	0.026
氟虫腴砒	0.1~100	$Y=6.01 \times 10^4 X + 2.13 \times 10^4$	0.995	0.72	0.0068	0.022
氟虫腴亚砒	0.1~100	$Y=3.25 \times 10^4 X + 3.29 \times 10^4$	0.993	0.58	0.0047	0.015
磺胺苯酰	0.1~100	$Y=3.67 \times 10^4 X + 2.05 \times 10^4$	0.991	0.69	0.044	0.15
磺胺醋酰	0.1~100	$Y=4.53 \times 10^4 X + 2.84 \times 10^4$	0.991	0.98	0.065	0.22
磺胺二甲基嘧啶	0.1~100	$Y=3.01 \times 10^4 X + 6.34 \times 10^2$	0.994	0.99	0.054	0.173
磺胺嘧啶	0.1~100	$Y=1.61 \times 10^5 X + 3.25 \times 10^4$	0.998	1.03	0.064	0.209
磺胺二甲氧嘧啶	0.1~100	$Y=1.12 \times 10^5 X + 1.74 \times 10^4$	0.995	0.94	0.082	0.27
磺胺邻二甲氧嘧啶	0.1~100	$Y=4.01 \times 10^4 X + 5.02 \times 10^3$	0.996	0.94	0.032	0.11
磺胺甲基嘧啶	0.1~100	$Y=7.41 \times 10^4 X + 9.81 \times 10^3$	0.996	1.02	0.33	1.1
磺胺甲氧嘧啶	0.1~100	$Y=4.95 \times 10^4 X + 2.76 \times 10^3$	0.997	1.09	0.031	0.1
磺胺二甲嘧啶	0.1~100	$Y=1.63 \times 10^5 X + 3.24 \times 10^4$	0.996	0.94	0.038	0.13
磺胺甲二唑	0.1~100	$Y=3.96 \times 10^4 X + 4.19 \times 10^3$	0.993	0.94	0.049	0.16
磺胺甲基异恶唑	0.1~100	$Y=2.81 \times 10^4 X + 2.02 \times 10^3$	0.991	1.08	0.014	0.047
磺胺甲氧唑	0.1~100	$Y=4.62 \times 10^4 X + 1.52 \times 10^4$	0.999	0.96	0.056	0.179
磺胺间甲氧嘧啶	0.1~100	$Y=2.65 \times 10^4 X + 6.34 \times 10^2$	0.999	1.07	0.064	0.211
磺胺恶唑	0.1~100	$Y=3.97 \times 10^4 X + 4.46 \times 10^3$	0.999	1.03	0.072	0.24
磺胺苯吡唑	0.1~100	$Y=1.66 \times 10^4 X + 7.34 \times 10^3$	0.998	1.02	0.058	0.18
磺胺吡唑	0.1~100	$Y=4.08 \times 10^4 X + 1.56 \times 10^4$	0.996	1.01	0.037	0.12
磺胺吡啶	0.1~100	$Y=5.44 \times 10^4 X + 1.09 \times 10^4$	0.993	0.99	0.058	0.19
磺胺喹沙啉	0.1~100	$Y=2.36 \times 10^4 X + 9.74 \times 10^3$	0.992	1.08	0.073	0.241
磺胺噻唑	0.1~100	$Y=7.41 \times 10^4 X + 6.52 \times 10^3$	0.997	1.01	0.038	0.125
磺胺二甲异嘧啶	0.1~100	$Y=7.15 \times 10^5 X + 6.24 \times 10^3$	0.994	1.04	0.061	0.201
磺胺异恶唑	0.1~100	$Y=1.03 \times 10^4 X + 1.86 \times 10^3$	0.999	0.93	0.074	0.244
甲氧苄啶	0.1~100	$Y=7.30 \times 10^5 X + 6.50 \times 10^3$	0.995	1.01	0.046	0.151
羟甲基硝唑	0.1~100	$Y=1.36 \times 10^4 X + 1.27 \times 10^4$	0.991	0.93	0.087	0.286
羟甲基甲硝咪唑	0.1~100	$Y=1.52 \times 10^4 X + 1.33 \times 10^4$	0.994	1.05	0.066	0.217
2-甲硝咪唑	0.1~100	$Y=4.12 \times 10^4 X + 3.07 \times 10^4$	0.993	0.94	0.049	0.161
苯硝咪唑	0.1~100	$Y=6.37 \times 10^4 X + 1.05 \times 10^4$	0.993	0.98	0.057	0.188
地美硝唑	0.1~100	$Y=3.34 \times 10^4 X + 5.11 \times 10^3$	0.996	0.94	0.099	0.326
异丙硝唑	0.1~100	$Y=3.24 \times 10^4 X + 1.91 \times 10^4$	0.994	0.9	0.049	0.161
甲硝唑	0.1~100	$Y=5.43 \times 10^4 X + 8.37 \times 10^3$	0.998	1.12	0.057	0.188
奥硝唑	0.1~100	$Y=6.61 \times 10^4 X + 2.98 \times 10^3$	0.996	0.85	0.063	0.207
洛硝哒唑	0.1~100	$Y=5.09 \times 10^4 X + 5.43 \times 10^3$	0.997	1.07	0.11	0.362

表 3 38 种兽药的加标回收率和相对标准偏差(n=6)
Table 3 Recoveries and RSDs of the 38 veterinary drugs residues (n=6)

化合物	加标水平					
	0.50 μg/kg		1.00 μg/kg		10.0 μg/kg	
	回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	相对标准偏差/%	回收率/%	相对标准偏差/%
氯霉素	86.3	6.8	81.9	5.7	84.2	3.4
氟苯尼考	89.8	5.4	80.1	2.3	86.9	5.3
甲砒霉素	90.4	6.3	98.3	3.4	88.4	2.3
氟虫腈	88.7	3.4	85.6	6.7	83.5	3.7
氟甲腈	84.5	3.7	88.4	9.2	87.2	5.8
氟虫腈砒	87.0	3.9	86.2	1.3	105.3	4.6
氟虫腈亚砒	80.5	5.4	90.5	2.2	85.6	1.6
磺胺苯酰	84.3	6.8	97.4	5.6	109.3	6.5
磺胺醋酰	89.1	7.1	95.8	3.6	110.3	2.8
磺胺二甲基嘧啶	84.9	5.3	86.5	4.8	85.4	3.7
磺胺嘧啶	83.4	2.5	113.8	9.7	98.5	5.4
磺胺二甲氧嘧啶	83.5	1.1	82.1	2.5	95.1	4.9
磺胺邻二甲氧嘧啶	102.4	2.4	96.2	3.1	110.5	8.2
磺胺甲基嘧啶	88.4	9.5	80.1	3.8	87.9	1.6
磺胺甲氧嘧啶	86.1	5.4	96.5	2.4	89.4	2.5
磺胺二甲嘧啶	84.9	6.7	95.0	1.6	90.4	1.6
磺胺甲二唑	90.5	7.8	95.4	4.8	86.7	2.5
磺胺甲基异恶唑	88.4	8.4	87.3	7.2	95.7	3.3
磺胺甲氧唑	83.7	2.5	83.1	6.4	89.5	4.4
磺胺间甲氧嘧啶	91.5	4.3	84.5	6.9	100.3	5.1
磺胺恶唑	97.4	6.7	90.2	5.8	106.7	7.1
磺胺苯吡唑	80.9	9.8	96.3	1.4	83.8	2.9
磺胺吡唑	84.3	4.2	94.8	1.9	110.4	8.8
磺胺吡啶	95.7	1.8	95.1	3.8	97.3	7.4
磺胺喹沙啉	88.9	1.5	81.6	7.6	88.5	5.3
磺胺噻唑	87.9	6.2	84.3	8.5	96.1	2.4
磺胺二甲异嘧啶	99.1	4.8	102.6	9.1	85.2	4.4
磺胺异恶唑	89.2	5.2	91.7	2.8	86.4	6.1
甲氧苄啶	84.6	3.6	89.8	4.6	81.4	5.5
羟基甲硝唑	82.7	7.7	85.3	4.5	104.6	3.3
羟甲基甲硝咪唑	91.9	8.5	83.4	5.3	87.5	4.9
2-甲硝咪唑	85.8	6.4	80.8	5.7	83.6	9.4
苯硝咪唑	100.5	8.6	104.6	6.4	82.9	8.1
地美硝唑	104.1	2.5	107.8	2.3	94.7	5.7
异丙硝唑	82.9	3.3	96.3	3.8	86.8	6.3
甲硝唑	98.3	4.9	86.7	3.1	82.1	4.5
奥硝唑	84.1	7.1	82.3	5.4	85.5	7.6
洛硝哒唑	88.4	5.4	97.5	4.6	100.6	4.5

4 结 论

本研究采用改良多壁碳纳米管-QuEChERS 方法,结合超高效液相色谱-串联质谱法对鸡蛋中 38 种兽药残留进行测定,其中 14 批鸡蛋检出磺胺和硝基咪唑类兽药,且超出国家标准、农业部公告中规定的动物源食品中同类兽药残留限量值,提示鸡蛋存在一定的安全风险,有关监督管理部门应加强禽蛋中多兽残的风险监测与评估。

参考文献

- [1] 农业部 2002 年公告: 235 号动物性食品中兽药最高残留限量[Z]. Ministry of agriculture announcement in 2002: Maximum residue limit of veterinary drugs in animal food No.235 [Z].
- [2] GB 2763.1-2018 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S]. GB 2763.1-2018 National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food [S].
- [3] 赵海香, 刘海萍, 闫早婴. 多壁碳纳米管固相萃取净化-高效液相色谱法测定猪肉和鸡肉中的磺胺多残留[J]. 色谱, 2014, 32(3): 294-298. Zhao HX, Liu HP, Yan ZY. Analysis of sulfonamide residues in pork and chicken by high performance liquid chromatography coupled with solid-phase extraction using multiwalled carbon nanotubes as adsorbent [J]. Chin J Chromatogr, 2014, 32(3): 294-298.
- [4] 左晓磊, 王冰. 2015~2017 年石家庄市畜禽产品中磺胺类兽药残留及风险评估[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(13): 3232-3236. Zou XL, Wang B. Sulfonamides residues and risk assessment of animal products of 2015-2017 in Shijiazhuang city [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(13): 3232-3236.
- [5] Leston S, Freitas A, Nunes M, *et al.* Analysis of chloramphenicol residues in the macroalgae *Ulva lactuca* through ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) [J]. Mar Poll Bull, 2015, 91(1): 180-184.
- [6] 林涛, 樊建麟, 杨东顺, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定普洱茶中氟虫腈及其类似物残留[J]. 农药, 2015, 54(11): 814-817. Lin T, Fan JL, Yang DS, *et al.* Determination of fipronil and its similar compounds in pu'er teaby solid-phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Agrochemicals, 2015, 54(11): 814-817.
- [7] Cronly M, Behan P, Foley B, *et al.* Rapid confirmatory method for the determination of 11 nitroimidazoles in egg using liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2009, 1216(46): 8101-8109.
- [8] Anastassiades M, Lehotay SJ, Stajnbaher D, *et al.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce [J]. J AOAC Int, 2003, 86(2): 412.
- [9] Xu X, Xu XY, Han M, *et al.* Development of a modified QuEChERS method based on magnetic multiwalled carbon nanotubes for the simultaneous determination of veterinary drugs, pesticides and mycotoxins in eggs by UPLC-MS/MS [J]. Food Chem, 2019, 276: 419-426.
- [10] 宋宁宁, 张科明, 刘向红, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定凉茶中非法添加的 12 种化学药物[J]. 色谱, 2015, 33(10): 1026-1031. Song NN, Zhang KM, Liu XH, *et al.* Determination of twelve chemical drugs illegally added in herbaltea by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry coupled with modified QuEChERS [J]. Chin J Chromatogr, 2015, 33(10): 1026-1031.
- [11] 刘柱, 华颖, 陈万勤, 等. 氧化修饰多壁碳纳米管固相萃取-超高效液相色谱/串联质谱法同时测定牛奶中 7 种雌性激素残留[J]. 分析科学学报, 2018, 34(1): 73-79. Liu Z, Hua Y, Chen WQ, *et al.* Simultaneous determination of seven estrogens in milk by oxidation modified multi-walled carbon nanotubes cleaning with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. J Anal Sci, 2018, 34(1): 73-79.
- [12] 徐潇颖, 罗金文, 陈万勤, 等. 磁性多壁碳纳米管固相萃取/高效液相色谱-串联质谱法测定蜂蜜中多组分兽药残留[J]. 分析测试学报, 2017, (1): 61-66. Xu XY, Luo JW, Chen WQ, *et al.* Determination of veterinary drugs residues in honey by high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry with magnetic multi-walled carbon nanotubes [J]. J Instrum Anal, 2017, (1): 61-66.
- [13] 曹慧, 陈小珍, 朱岩, 等. 多壁碳纳米管净化-超高效液相色谱-串联质谱技术同时测定牛奶中青霉素类药物残留[J]. 质谱学报, 2015, 36(1): 23-28. Cao H, Chen XZ, Zhu Y, *et al.* Determination of penicillin residues in milk by multiwalled carbon nanotubes cleaning and UPLC-MS/MS [J]. J Chin Mass Spectrom Soc, 2015, 36(1): 23-28.
- [14] 黄超群, 黄雪, 吴娟, 等. 多壁碳纳米管分散固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定茶叶中 5 种烟碱类农药的残留量[J]. 理化检验(化学分册), 2018, 54(5): 94-100. Huang CQ, Huang X, Wu J, *et al.* LC-MS/MS determination of residual amounts of 5 neonicotinoid pesticides in tea with dispersive solid phase extraction using multiwalled carbon nanotubes as adsorbent [J]. Phys Test Chem Anal (Part B: Chem Anal), 2018, 54(5): 94-100.
- [15] Wu YL, Chen RX, Xue Y, *et al.* Simultaneous determination of amantadine, rimantadine and memantine in chicken muscle using multi-walled carbon nanotubes as a reversed-dispersive solid phase extraction sorbent [J]. J Chromatogr B, 2014, 965: 197-205.
- [16] 符靖雯, 黄子敬, 陈孟君, 等. 气相色谱-电子捕获检测器快速测定水产品中多种农药及兽药残留[J]. 理化检验(化学分册), 2018, 54(9): 29-33. Fu JW, Huang ZJ, Chen MJ, *et al.* Rapid determination of pesticide and veterinary drug residues in aquatic products by gas chromatography-electro capture detector [J]. Phys Test Chem Anal B, 2018, 54(9): 29-33.
- [17] 马俊琴, 于小慧, 贾翠玲, 等. 分子印迹杂化孔硅胶材料的制备及固相萃取-高效液相色谱法测定鲑鱼中氟喹诺酮类兽药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, (3): 540-546. Ma JQ, Yu XH, Jia CL, *et al.* Preparation of molecularly imprinted hybrid mesoporous silica materials for determination of fluoroquinolone veterinary drug residues in codfish by solid-phase extraction-high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2018, (3): 540-546.

- [18] 薛良辰, 蔡勤仁, 郑璇, 等. QuEChERS-GPC-GC/MS 同时测定鱼肉中 9 种羟基类兽药残留[J]. 质谱学报, 2017, (6): 51–59.
- Xue LC, Cai QR, Zheng X, *et al.* Determination of 9 hydroxy veterinary drug residues in fish by QuEChERS-GPC-GC/MS [J]. J Chin Mass Spectrom Soc, 2017, (6): 51–59.
- [19] 薛焕, 金雁, 于永丽. 超高效液相色谱-串联三重四极杆线性离子阱质谱法同时检测猪肉中 33 种兽药残留[J]. 分析科学学报, 2018, 34(3): 387–392.
- Xue H, Jin Y, Yu YL. Simultaneous determination of 33 veterinary drugs in pork by ultra performance liquid chromatography-tandem triple-quadrupole linear ion trap mass spectrometry [J]. J Anal Sci, 2018, 34(3): 387–392.
- [20] Chang GR, Chen HS, Lin FY. Analysis of banned veterinary drugs and herbicide residues in shellfish by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) and gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC/MS/MS) [J]. Mar Poll Bull, 2016, 113: 579–584.
- [21] 贡松松, 张婧, 严凤, 等. 高分辨质谱快速筛查牛乳中 10 种禁用兽药残留[J]. 中国乳品工业, 2019, (3): 52–57.
- Gong SS, Zhang J, Yan F, *et al.* Rapid Screening of ten estrogens and chloramphenicols in raw milk by ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Chin Dairy Ind, 2019, (3): 52–57.
- [22] 方从容, 高洁, 王雨昕, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定鸡蛋中 125 种兽药残留[J]. 色谱, 2018, 36(11): 57–69.
- Fang CR, Gao J, Wang YX, *et al.* Determination of 125 veterinary drugs residues in eggs by QuEChERS-ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2018, 36(11): 57–69.
- [23] 张朋杰, 张宪臣, 容裕棠, 等. QuEChERS-高效液相色谱-质谱/质谱法同时测定水产品中磺胺类和氯霉素类药物[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(20): 137–143.
- Zhang PJ, Zhang XC, Rong YT, *et al.* Simultaneous determination of sulfonamides and chloramphenicol residues in aquatic products by QuEChERS-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(20): 137–143.
- [24] Wu YL, Chen RX, Xue Y, *et al.* Simultaneous determination of amantadine, rimantadine and memantine in chicken muscle using multi-walled carbon nanotubes as a reversed-dispersive solid phase extraction sorbent [J]. J Chromatogr B, 2014, 965: 197–205.
- [25] 王哲, 于水利. 碳纳米管对磺胺甲恶唑的吸附过程及其机理研究[J]. 安全与环境学报, 2013, 13(3): 102–106.
- Wang Z, Yu SL. Adsorption process and the mechanism of sulfamethoxazole on carbon nanotubes [J]. J Saf Environ, 2013, 13(3): 102–106.
- [26] Zhao H, Liu X, Cao Z, *et al.* Adsorption behavior and mechanism of chloramphenicols, sulfonamides, and non-antibiotic pharmaceuticals on multi-walled carbon nanotubes [J]. J Hazard Mat, 2016, 310: 235–245.
- [27] Jhonysson ACGR, De-Oliveira S, Cleidiane GL, *et al.* Matrix effect in guava multiresidue analysis by QuEChERS method and gas chromatography coupled to quadrupole mass spectrometry [J]. Food Chem, 2016, 199: 380–386.
- [28] GB/T 21316-2007 动物源性食品中磺胺类药物残留量的测定 液相色谱-质谱/质谱法[S].
- GB/T 21316-2007 Determination of nitroimidazoles residues in foodstuffs of animal origin for import and export-LC-MS/MS method [S].
- [29] SN/T 1928-2007 进出口动物源性食品中硝基咪唑残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法[S].
- SN/T 1928-2007 Determination of nitroimidazoles residues in foodstuffs of animal origin for import and export-LC-MS/MS method [S].

(责任编辑: 韩晓红)

作者简介

莫迎, 副主任药师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: morningzai@163.com

盘正华, 主管药师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: 493238773@qq.com